

НЕКАНОНИЧЕСКИЕ АКТИВНОСТИ ПРОТЕАСОМ

© А. Г. Миттенберг

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: a.mittenberg@gmail.com*

26S протеасома — эволюционно консервативная высокоспециализированная рибонуклеопротеиновая машина для быстрого наведения порядка во внутриклеточном протеоме, состоящая из коровой 20S частицы и присоединенных к ней регуляторных комплексов. Помимо хорошо изученного убиквитин-протеасомного пути деградации белков протеасомы принимают участие (прямо или опосредованно) в большинстве этапов регуляции экспрессии генов: на уровне транскрипции, сплайсинга, контроля стабильности мРНК и др. В настоящем обзоре научной периодики проведена попытка систематизации современных данных литературы о роли протеасом в регуляции транскрипции на всех этапах, включающих в себя модуляцию активности и стабильности транскрипционных факторов, а также ремодуляцию хроматина, элонгацию и терминацию синтеза РНК. Кроме того, затронута очень интересная, но спорная особенность протеасом — их способность связывать и гидролизовать некоторые виды РНК. Очевидно, универсальная роль протеасом в регуляции генов определяется сложным составом белков этих комплексов, обладающих уникальным набором различных ферментативных активностей: АТФазной (геликазной), протеолитической и рибонуклеазной, которые в зависимости от ситуации могут быть использованы совместно или по отдельности.

Ключевые слова: протеасома, транскрипция, стабильность мРНК, регуляция экспрессии генов, посттрансляционные модификации.

Принятые сокращения: ААА — АТФазы, ассоциированные с различными клеточными активностями, УЗП — убиквитинзависимый протеолиз, УНЗП — убиквитиннезависимый протеолиз, PSMA и PSMB — субъединицы 20S протеасом α - и β -типа соответственно, PSMC (Rpt) — regulatory particle triple-A ATPase (субъединицы 19S регуляторного комплекса протеасом, входящие в семейство ААА-АТФаз), PSMD (Rpn) — regulatory particle non-ATPase (не АТФазные субъединицы 19S регуляторного комплекса), PSME — субъединицы 11S (PA28) регуляторного комплекса протеасом.

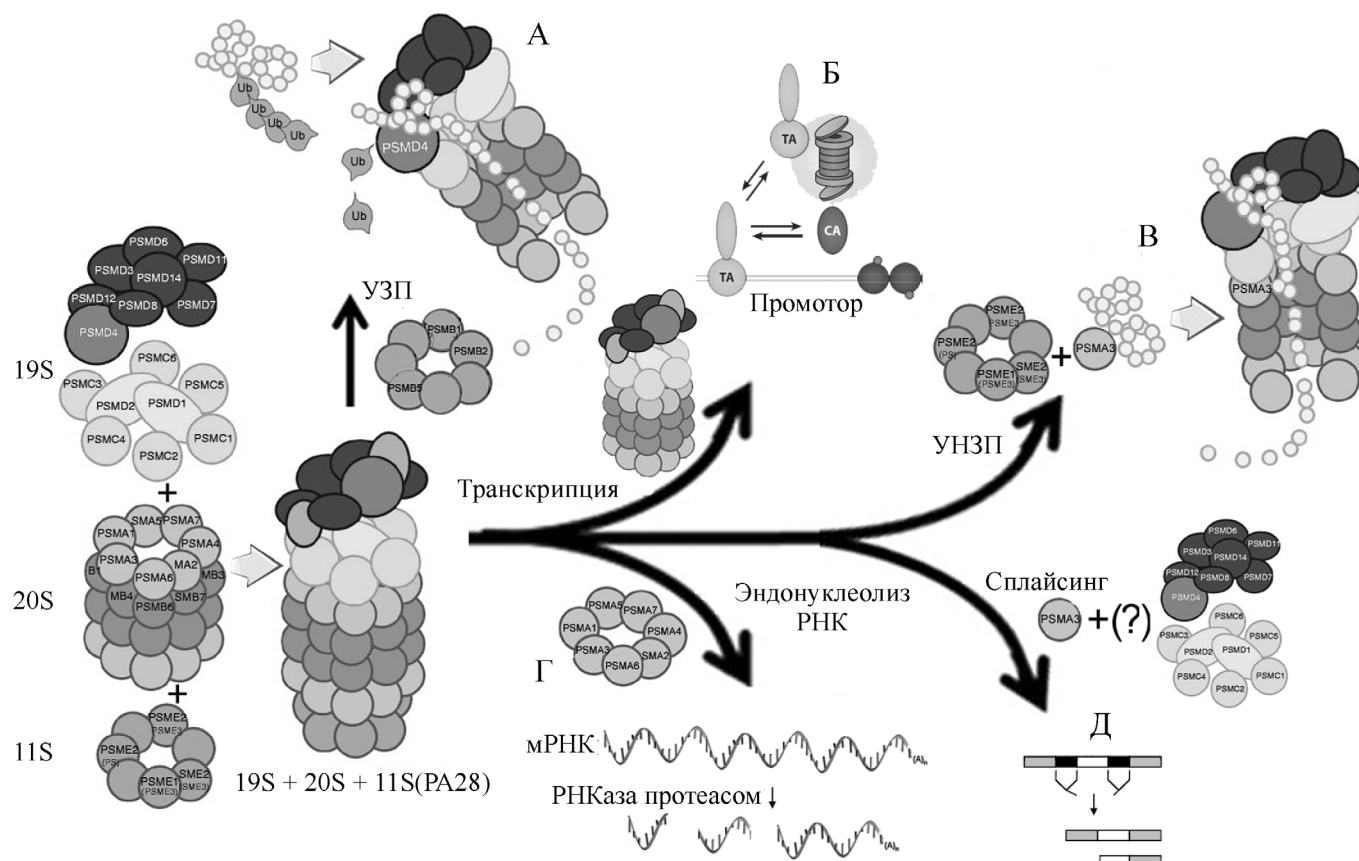
Обнаруженные впервые электронно-микроскопическими методами без малого полвека назад (Harris, 1968) мультикаталитические протеиназы (протеасомы, просомы) в последние десятилетия привлекли к себе пристальное внимание множества исследователей во всем мире.

26S протеасома представляет собой мультисубъединичный рибонуклеопротеиновый комплекс, обнаруживаемый в ядре и цитоплазме клеток всех эукариот. По данным разных исследователей, протеасомы являются основным белковым компонентом клетки, составляя до 1—2 % от общего клеточного белка (Konstantinova et al., 2008). Основной функцией клеточных протеасом является расщепление белков, маркированных полиубиквитиновыми цепями, посредством ограниченного и контролируемого протеолиза. Кроме того, многие белки расщепляются протеасомами по убиквитиннезависимому механизму, хотя этот путь менее хорошо изучен (Venarodj et al., 2001; Coffino, 2001; Tsvetkov et al., 2010).

26S протеасома состоит из цилиндрического 20S корового комплекса и одного или двух 19S регуляторных комплексов (Walz et al., 1998). Каждый из 19S комплексов в свою очередь состоит по меньшей мере из 17 субъединиц, 6 из которых обладают АТФазной активностью (Glickman, Ciechanover, 2002). АТФазные субъединицы

обозначаются как Rpt (regulatory particle triple-A ATPase), тогда как не АТФазные субъединицы называются Rpn (regulatory particle non-ATPase). Субъединицы 19S регуляторного комплекса участвуют в распознавании и разворачивании полиубиквитинилированных субстратов, тем самым регулируя протеолитические активности 20S протеасомы. Последняя представляет собой структуру из четырех гептамерных колец (каждое из которых образовано 7 субъединицами), уложенных стопкой (Baumeister et al., 1998; Voges et al., 1999), в которой проксимальные кольца ассоциированы с протеолизом (субъединицы $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 5$ связаны соответственно с каспазо-, трипсино- и хитрипсиноподобными протеолитическими активностями (Dick et al., 1998; Kisselev et al., 1999)), а дистальные (состоящие из субъединиц α -типа) — со связыванием субстрата и открыванием канала протеолитической камеры.

Процесс экспрессии генов на каждой стадии требует присутствия множества белков в нужное время, в нужном месте и в нужном количестве. Общие механизмы, с помощью которых в клетке регулируются локализация, время жизни и количества многих белков, имеющих отношение к экспрессии генов, остаются неясными. Накопленные за последние десятилетия данные позволяют



Участие протеасом в клеточных процессах.

А — убиквитинзависимый протеолиз (УЗП); Б — транскрипция; В — убиквитин-независимый протеолиз (УНЗП); Г — регуляция стабильности информационных РНК; Д — сплайсинг. УЗП — убиквитинзависимый протеолиз, УНЗП — убиквитиннезависимый протеолиз, PSMA1-PSMA7, PSMB1-PSMB7 — субъединицы 20S протеасом α - и β -типа соответственно, PSMC1-PSMC6 (Rpt) — regulatory particle triple-A ATPase (субъединицы 19S регуляторного комплекса протеасом, входящие в семейство AAA-АТФаз), PSMD1-PSMD14 (Rpn) — regulatory particle non-ATPase (не АТФазные субъединицы 19S регуляторного комплекса), PSME1-PSME3-субъединицы 11S (PA28) регуляторного комплекса протеасом, TA — активатор транскрипции, CA — коактиватор транскрипции, Ub — убиквитин.

рассматривать 26S протеасомы в роли некоего универсального внутриклеточного инструмента, несущего интегрированный набор разнообразных биохимических функций, привлекаемого в целом, но использующего индивидуально ту или иную функцию или активность исходя из конкретной задачи в регуляции экспрессии генов.

В последнее время все большее число исследований показало, что 26S протеасома, нелизосомальная машина для деградации белков, имеющая шаперонную активность, проявляя неканонические ферментативные активности, такие как АТФазная/геликазная и РНКазная, участвует в управлении несколькими этапами экспрессии генов: транскрипцией (включая инициацию, элонгацию, терминацию), а также процессингом и регуляцией стабильности мРНК (см. рисунок).

Неканонические активности протеасом в регуляции транскрипции

Существует концепция, согласно которой протеасомы осуществляют процессинг убиквитинилированных субстратов в непосредственной близости от хроматина либо непосредственно, либо через шапероны, такие как Cdc48. Протеасомы действительно привлекаются к сайтам транскрипции (Gonzalez et al., 2002; Morris et al.,

2003; Ezhkova, Tansey, 2004; Auld et al., 2006; Sikder et al., 2006; Szutorisz et al., 2006; Malik et al., 2009; Tran et al., 2010). Кроме того, было показано, что один или несколько компонентов протеасомы взаимодействуют с большинством высокоактивных генов у дрожжей (Auld et al., 2006), но весьма вероятно, что ряд генов, транскрибируемых РНК-полимеразой II, а также, возможно, гены, транскрибируемые РНК-полимеразой I (Fatyol, Grummt, 2008), могут экспрессироваться без участия протеасом. Исследования показали участие протеасом почти во всех этапах транскрипции, начиная от контроля активаторов и их ассоциации с хроматином и заканчивая регулируемой заменой коактиваторов (Perissi et al., 2004; Lee et al., 2005), элонгацией (Ferdous et al., 2001, 2002), терминацией (Gillette et al., 2004), ковалентными модификациями гистонов (Lee et al., 2005; Koues et al., 2008, 2009, 2010; Truax et al., 2010) и репрессией криптических транскриптов (Szutorisz et al., 2006; Cheung et al., 2008).

Тем не менее природа протеасом, которые участвуют в регуляции генов, и конкретный вклад активностей 19S комплекса по сравнению с 20S кором остаются неясными. Одни исследователи считают, что формой протеасомы, участвующей в транскрипции, является «основание» 19S регуляторного комплекса (Kodadek, 2010), которое использует энергию гидролиза АТФ для регуляции динамического круговорота ключевых белков в сайтах транс-

крипции. В пользу этой версии говорят генетические доказательства связывания компонентов основания 19S регуляторного комплекса (но не 20S коровой частицы) с действием Gal4 активатора дрожжей (Swaffield et al., 1995; Xu et al., 1995; Russell et al., 1996; Russell, Johnston, 2001), в частности, показанная в экспериментах *in vitro* способность активирующих транскрипцию доменов и транскрипционных факторов к избирательному взаимодействию с белками 19S комплекса (Sun et al., 2002; Rusti et al., 2006; Truax et al., 2010). Кроме того, по данным опытов по иммунопреципитации хроматина, некоторые заметные расхождения в распределении 19S и 20S компонентов на хроматине также свидетельствуют о вовлечении в транскрипционные события именно 19S регуляторного комплекса (Gonzalez et al., 2002; Auld et al., 2006; Sikder et al., 2006; Szutorisz et al., 2006; Malik et al., 2009). Важно отметить, что биохимические исследования четко показали необходимость привлечения 19S комплексов для осуществления таких событий, как элонгация транскрипции (Ferdous et al., 2001) и стимуляция связывания коактиватора (Lee et al., 2005). Это является дополнительным доказательством того, что для процесса транскрипции важно привлечение лишь АТФаз основания 19S комплекса.

С другой стороны, столь же убедительные аргументы могут быть выдвинуты применительно к роли белков 20S протеасомы в важнейших транскрипционных событиях. Компоненты 20S корового комплекса связываются с активными генами (Gillette et al., 2004; Auld et al., 2006; Szutorisz et al., 2006; Malik et al., 2009), необходимыми для реализации активаторной и коактиваторной функций, а также для терминации транскрипции (Gillette et al., 2004) и репрессии криптической транскрипции (Szutorisz et al., 2006; Cheung et al., 2008). Кроме того, они привлекаются в хроматин в ответ на повреждения ДНК (Verma et al., 2011), где способствуют удалению комплексов РНК-полимеразы II, которые необратимо останавливаются при повреждениях ДНК. Таким образом, протеолитическая активность протеасом необходима для нормального хода транскрипционных процессов, а также для решения проблем, возникающих при экспрессии генетической информации.

Следует отметить, что пока не обнаружено доказательств существования в свободной форме основания 19S комплекса, что может объясняться нестабильностью протеасомных комплексов при их выделении (Verma et al., 2000). Большинство полученных *in vivo* доказательств, подтверждающих отсутствие влияния компонентов 20S протеасом на процесс транскрипции, получено с использованием метода иммунопреципитации хроматина, а также в исследованиях с использованием фармакологических ингибиторов химотрипсиновой активности протеасом, которые не затрагивают другие протеолитические активности (Collins et al., 2010). Следует также подчеркнуть, что нет необходимости физически отделять протеолитические активности протеасом; разворачивание белка происходит на поверхности 19S комплекса (Navon, Goldberg, 2001), и 26S протеасома может разбирать белковые комплексы независимо от протеолиза (Nishiyama et al., 2000). В зависимости от их свойств одни белки направляются в протеолитическую камеру, в то время как другие избегают протеасомной деградации (Fishbain et al., 2011). Таким образом, каноническая 26S протеасома, безусловно, может во время процесса транскрипции проявлять как протеолитические активности, так и неканонические (АТФазную/геликазную).

Сотрудники группы Тэнси (Geng, Tansey, 2012) полагают, что к транскрипционно активным генам привлекается вся 26S протеасома, которая используется в качестве своего рода швейцарского армейского ножа, осуществляя интегрированный набор биологических функций. На ранних этапах транскрипции АТФазы 19S комплекса регулируют положение активатора (Ferdous et al., 2007) и привлечение коактиватора (Perissi et al., 2004; Lee et al., 2005), и вся протеасома готова к расщеплению активатора, как только активируется «механизм самоуничтожения». После инициации транскрипции РНК-полимеразой II протеасома подходит к транскрибируемой части гена и запускает свои протеолитические и непротеолитические активности, ремоделируя хроматин матрицы для облегчения элонгации (Ferdous et al., 2001, 2002), а также служит для удаления остановленных транскрипционных комплексов или тех, инициация транскрипции на которых происходит в неподходящих участках генома (Auld et al., 2006; Szutorisz et al., 2006; Daulny, Tansey, 2009). И по мере того как транскрипция близится к завершению, протеасома использует свои активности для управления изменениями в составе комплексов РНК-полимеразы II, необходимыми для терминации транскрипции (Gillette et al., 2004). Таким образом, как и швейцарский армейский нож, протеасома может быть использована для решения как рутинных задач, так и чрезвычайных ситуаций в транскрипционных комплексах с использованием различных активностей в зависимости от стадии или проблемы в процессе транскрипции.

РНКазная активность протеасом и их отдельных субъединиц

Чуть более 20 лет назад появились данные о существовании некоего 20S белкового комплекса неизвестного состава, вовлеченного в деградацию информационных РНК, содержащих АУУУА-богатые 3'-нетранслируемые области (Savant-Bhonsale, Cleveland, 1992). Впоследствии было обнаружено, что 20S протеасома способна прочно связываться с олигорибонуклеотидами, содержащими множественные копии АУУУА-последовательностей (Pouch et al., 1995; Petit et al., 1997a). Эта же группа авторов выяснила, что коровый 20S комплекс протеасом проявляет способность к расщеплению РНК вируса табачной мозаики (Pouch et al., 1995), при этом нуклеаза устойчива к диссоциирующим воздействиям, таким как 480 мМ КСl, 0.5 %-ный саркозил и 6 М мочевины. Данные результаты показывают, что для проявления протеасомами эндонуклеазной активности вовсе не требуется целостности комплексов, т. е. речь идет об активности тех или иных субъединиц 20S протеасомы. Кроме того, деградация РНК не была случайной и не приводила к появлению мононуклеотидов или набора коротких олигонуклеотидов. Наименьший из продуктов нуклеолиза (фрагментов РНК вируса табачной мозаики) имел размер около 120 нуклеотидов, что соответствовало длине молекулы 5S рибосомной РНК, использованной исследователями в качестве маркера (Petit et al., 1997a).

Далее встал вопрос о локализации обнаруженной эндонуклеазной активности в пределах 20S протеасомы. Протеасомы диссоциировали с помощью мочевины и разделяли субъединицы в двухмерном электрофорезе. Было обнаружено, что рибонуклеазная активность протеасом ассоциирована с субъединицей с мол. массой 28 кДа

(Petit et al., 1997a). Проведенный впоследствии иммуноблоттинг с моноклональными антителами, специфичными для субъединиц 20S протеасом, показал, что данный белок идентичен субъединице корового комплекса α -типа, обозначаемой как зета (PSMA5) (Petit et al., 1997a, 1997b). Таким образом, было получено первое свидетельство проявления ферментативной активности α -субъединицами протеасом. Представляло интерес выяснить, не обладают ли обнаруженной активностью и другие белки коровой 20S частицы. Действительно, таковые были идентифицированы. Помимо уже известной субъединицы зета еще одна α -субъединица, иота (PSMA6), проявляла эндонуклеазную активность по отношению к РНК вируса табачной мозаики, хотя и в меньшей степени. Кроме того, РНКазную активность, хотя и очень низкую, проявляли два протеасомных белка с мол. массами более 29 кДа, что также соответствует субъединицам α -типа, ибо мол. массы β -субъединиц не превышают 27 кДа (Petit et al., 1997b). Впоследствии было обнаружено, что немалая часть молекул субъединицы зета (PSMA5) присутствует в клетках и в свободной форме, причем как в ядре, так и в цитоплазме (Jørgensen, Hendil, 1999). Свободная субъединица зета также проявляла эндорибонуклеазную активность, хотя и значительно слабее, нежели 20S частица. Физиологическая функция этих довольно многочисленных мономеров субъединицы зета, однако, до сих пор неясна.

Любая ферментативная активность требует соблюдения определенных условий реакции. Так, высокая ионная сила, превышающая 480 мМ КСl, подавляла РНКазную активность протеасом (Pouch et al., 1995), а наиболее высокая активность была зарегистрирована при 240 мМ КСl. Эти наблюдения коррелируют с поведением прочих внутриклеточных РНКаз, активность которых подавляется концентрациями солей, превышающими 350 мМ. При таких условиях нарушаются взаимодействия фермент—субстрат (в данном случае взаимодействия белок—РНК). По данным французских исследователей, рибонуклеазная активность, ассоциированная с протеасомами, нуждается в присутствии в реакционной смеси двухвалентных катионов — либо магния, либо кальция (Petit et al., 1997a). Наиболее высокую активность по отношению к РНК вируса табачной мозаики протеасомы проявляли при концентрациях магния в пределах 1.25—5 мМ, а добавление в реакционную смесь 5 мМ ЭДТА (при концентрации Mg^{2+} , равной 3 мМ) приводило к полному подавлению РНКазы протеасом. Однако двухвалентные катионы оказывают влияние не только на нуклеазу протеасом, но также и на другие рибонуклеазы, в частности на РНКазу Е и РНКазу Т (Petit et al., 1997a). Оптимальные значения рН для данной системы фермент—субстрат, по данным тех же исследователей, лежали в пределах 7.0—7.4.

РНКазы протеасом оказались также чувствительной к повышению температуры. Так, инкубация в течение 20 мин при 55 °С приводила к потере примерно половины активности, а после 2 мин при 80 °С активность подавлялась полностью, в то время как температурный оптимум реакции составил 37 °С. Столь «капризное» поведение РНКазы протеасом, по мнению открывших ее исследователей, могло быть одной из основных причин, помешавших другим авторам обнаружить данную активность 20S протеасом (Pouch et al., 1995; Petit et al., 1997a).

Серьезным аргументом в пользу специфических взаимодействий между протеасомами и РНК является

присутствие малых РНК в очищенных препаратах протеасом. Так, 20S протеасомы могут содержать низкомолекулярные РНК, представляющие собой гетерогенную популяцию молекул длиной 80—120 нуклеотидов (Schmid et al., 1995). По данным разных исследователей, содержание РНК в протеасомах, выделенных из клеток разных тканей различных организмов, колеблется в пределах от 0.0016 до 0.2 % (Petit et al., 1997a).

Если протеасомы способны к нуклеолизу РНК, значит, они должны высокоспецифично связываться с РНК-субстратом, что было достоверно показано на примере взаимодействия протеасом с РНК вируса табачной мозаики (Petit et al., 1997a). В дальнейшем было продемонстрировано, что 20S протеасомы из клеток подсолнечника способны расщеплять РНК не только вируса табачной мозаики, но и вируса мозаики салата (Ballut et al., 2003). Исследования той же группы ученых показали, что далеко не все молекулы РНК подвергаются эндонуклеолизу протеасомами. Так, рибосомные 5S РНК, 9S глобиновая мРНК и лизил-тРНК не подвергались протеасомной деградации (Pouch et al., 1995; Petit et al., 1997a), что навело исследователей на мысль о существовании специфических последовательностей нуклеотидов (сигналов) для деградации РНК, узнаваемых протеасомами.

Наиболее хорошо изученным примером хорошо узнаваемых нуклеотидных последовательностей, вовлеченных в дестабилизацию информационных РНК, являются 3'-нетранслируемые районы (3'-НТР), расположенные рядом с поли(А) последовательностями молекул мРНК. Периоды полужизни молекул мРНК эукариот различаются весьма существенно в зависимости от природы мРНК. Так, для короткоживущих мРНК цитоклинов и протоонкогенов эта величина составляет 5—30 мин, в то время как периоды полужизни стабильных мРНК, таких, например, как глобиновые, исчисляются несколькими сутками (Wang, Kiledjian, 2000). При этом обнаружено, что β -глобиновая мРНК, имеющая период полужизни более 17 ч, содержит лишь один АУУУА-мотив (Jarrousse et al., 1999). Было показано, что представленные в 3'-НТР различных транскриптов АУУУА-повторы играют ключевую роль в регуляции стабильности и эффективности трансляции информационных РНК, в частности инсерция этих повторов в 3'-НТР стабильной при нормальных условиях мРНК β -глобина приводила к дестабилизации этой РНК (Sachs, 1993).

Помимо многочисленных факторов белковой природы, способных связываться с АУ-богатыми областями молекул мРНК и участвующих в дестабилизации последних (Loflin et al., 1999), были обнаружены случаи стабилизации молекул мРНК посредством связывания их 3'-НТР со специфическими белковыми комплексами (или отдельными компонентами этих комплексов), препятствующими специфическому эндонуклеолизу вышеназванных участков молекулы мРНК (Wang, Kiledjian, 2000).

Известно, что существуют две большие группы белков с противоположными функциями, связывающиеся с аденин-богатыми (ARE) последовательностями РНК. Первая группа участвует в дестабилизации таких мРНК и представлена в основном экзо- и эндонуклеазами и взаимодействующими с ними белками (Taylor, Blackshear, 1995; Taylor et al., 1996; Carballo et al., 2000; Ming et al., 2001; Stoecklin et al., 2002; Gherzi et al., 2004; Lu et al., 2004; Raineri et al., 2004; Schmidlin et al., 2004). Напротив, вторая группа белков, в которую входят различные изоформы АUF и HuR, направлена на предотвращение этой

деградации (Ma et al., 1996; Fan, Steitz, 1998; Loflin et al., 1999; Wang, Kiledjian, 2000; Laroia, Schneider, 2002). Учитывая, что для протеасом показана способность связываться с такими последовательностями *in vitro*, естественно предположить, что протеасомы могут влиять на стабильность ARE-содержащих мРНК через протеолитическую деградацию белков HuR и AUF (Pouch et al., 1995; Petit et al., 1997a). Ряд работ подтверждает данную гипотезу (Kandasamy, Kraft, 2008; Abdelmohsen et al., 2009).

Обнаружение способности 20S протеасом связываться с АУУА-богатыми олигонуклеотидами (Pouch et al., 1995; Petit et al., 1997a) дало основания утверждать, что эндонуклеаза 20S протеасом может быть вовлечена в дестабилизацию АУУА-богатых 3'-НТР короткоживущих клеточных мРНК. Однако вопрос о наличии эндорибонуклеазной активности у 26S протеасом оставался открытым. Было неизвестно, сохраняется ли эта активность после присоединения регуляторных комплексов PA700, и какое влияние они на нее оказывают.

Кроме аденин-богатых элементов протеасомы также могут связывать и гидролизовать структуры РНК типа «стебель—петля». Подтверждением такой способности стали эксперименты *in vitro* с частично восстановленным комплексом 20S протеасом и РНК с использованием олигонуклеотидов, соответствующих HIV-TAR (Tat-транскрипционный элемент вируса иммунодефицита человека) (Gautier-Bert et al., 2003). Было показано, что мРНК ВИЧ, несущая структуры типа «стебель—петля» в 5'-нетранслируемой области, связывается с протеасомами и подвергается деградации с помощью эндонуклеазы протеасом. Формирование комплекса 20S протеасомы с данным субстратом РНК весьма специфично, так как усеченный TAR не расщепляется 20S протеасомой. Таким образом, вполне вероятно, что в дополнение к своим АТФазной и протеолитическим активностям протеасома также может регулировать экспрессию ВИЧ с помощью РНКазной активности.

В дальнейшем показали, что РНКазной активностью обладают и 26S протеасомы, выделенные из клеток человека линий A431 и K562. При этом в качестве субстрата для расщепления могут выступать различные РНК эукариот — как рибосомные, так и специфические информационные (Евтеева и др., 2000; Миттенберг и др., 2002a, 2002b, 2007; Токтарова и др., 2004, Kulichkova et al., 2010).

Последующие исследования, проведенные на клетках человека и крысы, продемонстрировали, что как 26S комплекса, так и отдельные α -субъединицы 20S корового комплекса проявляют эндорибонуклеазную активность (Евтеева и др., 2000; Миттенберг и др., 2002b, 2007, 2014; Токтарова и др., 2004; Цимоха и др., 2006; Tsimokha et al., 2007; Kulichkova et al., 2010). Для подтверждения способности α -субъединиц к деградации РНК были созданы химерные белки, несущие последовательности PSMA-субъединиц, слитые с глутатион-S-трансферазой. Все исследованные белки (PSMA2-GST, PSMA3-GST, PSMA4-GST, PSMA5-GST, PSMA6-GST и PSMA7-GST) обладали специфической регулируемой эндоРНКазной активностью по отношению по меньшей мере к трем РНК-субстратам, в то время как белок GST этой активности не проявлял (Федорова и др., 2010; Kulichkova et al., 2010).

Важно отметить, что для протеасом и их отдельных субъединиц была показана способность к деградации

ARE-содержащих мРНК нескольких короткоживущих белков, в том числе p53, c-myc и c-fos (Федорова и др., 2010; Kulichkova et al., 2010; Миттенберг и др., 2014). Кроме того, РНКазы 26S протеасом способствовали негативной регуляции экспрессии гена *c-myc* в клетках проэритроидной дифференцировки с помощью гемина. Подавление активности *c-myc* существенно для начала дифференцировки по эритроидному пути, так как продукт данного гена направляет клетки на пролиферацию (Lachman, 1989). Таким образом, впервые продемонстрировано доказательство физиологического значения РНКазной активности протеасом, а именно участие ее в дифференцировке клеток (Kulichkova et al., 2010; Sorokin, Ovchinnikov, 2010).

Были продемонстрированы и другие свидетельства зависимости эндорибонуклеазной активности протеасом от физиологического состояния клетки: при проведении сигнала от рецептора эпидермального фактора роста в клетках линии A431 (Евтеева и др., 2000), при индукции апоптоза в клетках K562 (Токтарова и др., 2004). На этих клеточных моделях была выявлена зависимость РНКазной активности протеасом от статуса фосфорилирования их субъединиц. Так, дефосфорилирование протеасом из клеток K562, индуцированных геминем к эритроидной дифференцировке (Миттенберг и др., 2002a, 2002b) или доксорубицином к апоптозу (Миттенберг и др., 2007; Tsimokha et al., 2007), а также протеасом из клеток A431 при проведении сигнала от рецептора ЭФР (Евтеева и др., 2003) влияло на их способность к гидролизу РНК. Действительно, данные последних лет из литературы наряду с нашими собственными подтверждают, что α -субъединицы 20S протеасом подвергаются фосфорилированию (см. обзор: Mittenberg et al., 2008).

Недавние масс-спектрометрические исследования подтвердили, что статус данной посттрансляционной модификации может варьировать при изменении физиологического состояния клетки. Так, например, индукция генотоксического стресса в клетках K562 вызывала появление значительно более фосфорилированных форм белков α -типа — $\alpha 5$ (PSMA5), $\alpha 6$ (PSMA1) и $\alpha 7$ (PSMA3) (Moiseeva et al., 2013). Эти субъединицы, как уже говорилось выше, обладают способностью к эндонуклеолитическому расщеплению РНК, кроме того, субъединица PSMA1 содержит сайт связывания РНК, а для белка PSMA3 показано участие в связывании субстратов убиквитиннезависимого протеолиза (Touitou et al., 2001) и сплайсинге (Fedorova et al., 2011). Кроме того, с помощью масс-спектрометрии недавно показали, что химерный белок PSMA3-GST связывается с различными цитоплазматическими и ядерными белками, принимающими участие в регуляции ряда клеточных процессов, в том числе с транскрипционными факторами (фактором, ассоциированным с РНК-полимеразой II, фактором инициации транскрипции II и др.), шаперонами (HSP70, HSP90 α , HSP90 β и др.), белками цитоскелета (актином, тубулином, α -актинином 2 и 4 и др.), белками, участвующими в репарации ДНК (АТФ-зависимой РНК-геликазой и др.), в сплайсинге и процессинге РНК (фактором сплайсинга 3A, гетерогенными ядерными рибонуклеопротеинами и др.), в трансляции (фактором элонгации 1, лизил-тРНК-синтазой и др.) (Fedorova et al., 2011). В этой же работе продемонстрирована и способность протеасом к репрессии *in vitro* альтернативного сплайсинга гена SMN1/2 (Fedorova et al., 2011).

Помимо фосфорилирования было показано, что субъединицы 20S комплекса также подвергаются убиквитинилированию (Моисеева и др., 2010; Moiseeva et al., 2013). В ответ на генотоксический стресс уровень убиквитинилирования остатков лизинов падает, что сопровождается повышением пептидазных активностей протеасом. При этом обработка клеток противораковым препаратом доксорубицином приводила к появлению дополнительных ацетилированных лизинов в составе 20S-протеасомных субъединиц (Moiseeva et al., 2013). Эти данные говорят о том, что активность как протеасомных, так и многих других белков может определяться балансом между ацетилированием, убиквитинилированием и метилированием (Morgunkova, Barlev, 2006; Marouco et al., 2013). Влияет ли убиквитинилирование субъединиц на РНКазную активность протеасом, пока неизвестно.

Заключение

Данные последних лет показывают, что протеасомы участвуют в регуляции основных клеточных процессов, а также в основных этапах экспрессии генов и что сами эти комплексы подвергаются строго организованной регуляции. Тем не менее клеточные пути этой регуляции (ферменты, ответственные за модификации субъединиц, пути контроля их активностей, механизмы регуляции экспрессии субъединиц, клеточной локализации и др.) остаются в основном неизученными. Кроме того, несмотря на большой прогресс в понимании механизмов функционирования протеасом, многие вопросы остаются без ответа, и среди них — проблема специфичности участия протеасом в транскрипции и других уровнях экспрессии генов: существует ли избирательность влияния специфически модифицированных субпопуляций протеасом на экспрессию различных генов? Исследования специализированных субпопуляций этих комплексов, участвующих в ответе на различные внешние и внутренние сигналы, а также в разнообразных клеточных процессах, в настоящее время пребывают на начальном этапе. Кроме того, пока нет никакой информации о роли РНКазной активности протеасом в клетке и о функциональном значении обнаруженного несколько лет назад экспорта протеасом из клетки. Таким образом, будущие эксперименты должны быть направлены на выяснение механизмов сочетанной регуляции различных ферментативных активностей протеасом в различных клеточных процессах, в том числе в регуляции экспрессии генов. Открытие участия протеасом в метаболизме РНК требует дальнейших исследований в отношении физиологического значения данного явления.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 12-04-01397 и 13-04-01024), программы МКБ президиума РАН и федеральной целевой научно-технической программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009—2013 гг.» (соглашение № 8280).

Список литературы

Евтеева И. Н., Куличкова В. А., Миттенберг А. Г., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б., Тесленко Л. В., Обухова А. Д., Пеннийянен В. А., Гаузе Л. Н., Константинова И. М. 2000. Новая эндорибонуклеазная активность 26S протеасом из клеток ли-

нии А-431. Цитология. 42 (7) : 675—680. (Evteeva I. N., Kulichkova V. A., Mittenberg A. G., Volkova I. V., Ermolaeva Yu. B., Teslenko L. V., Obukhova A. D., Pennijainen V. A., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2000. Novel endoribonuclease activity of 26S proteasomes from A431 cells. Tsitologiya. 42 (7) : 675—680.)

Евтеева И. Н., Куличкова В. А., Обухова А. Д., Миттенберг А. Г., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б., Токтарова М. В., Тесленко Л. В., Гаузе Л. Н., Константинова И. М. 2003. Регуляция эндорибонуклеазной активности 26S протеасом в клетках линии А431 : возможное участие протеасом в контроле над стабильностью РНК эпидермальным фактором роста. Цитология 45 (5) : 488—492. (Evteeva I. N., Kulichkova V. A., Obukhova A. D., Mittenberg A. G., Volkova I. V., Ermolaeva Yu. B., Toktarova M. V., Teslenko L. V., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2003. EGF regulation of specific endoribonuclease activity of 26S proteasomes from A431 cells: a potential role of proteasomes in control of mRNA stability. Tsitologiya. 45 (5) : 488—492.)

Миттенберг А. Г., Куличкова В. А., Медведева Н. Д., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б., Константинова И. М. 2002a. Характеристики эндорибонуклеазной активности протеасом из клеток линии К562. II. Анализ нуклеолиза специфических мРНК протеасомами. Цитология. 44 (4) : 357—363. (Mittenberg A. G., Kulichkova V. A., Medvedeva N. D., Volkova I. V., Ermolaeva Yu. B., Konstantinova I. M. 2002a. Properties of endoribonuclease activity of proteasomes from K562 cells. II. Analysis of specific mRNA nucleolysis by proteasomes. Tsitologiya. 44 (4) : 357—363.)

Миттенберг А. Г., Куличкова В. А., Медведева Н. Д., Пеннийянен В. А., Гаузе Л. Н., Константинова И. М. 2002b. Характеристики эндорибонуклеазной активности протеасом из клеток линии К562. I. Зависимость РНКазной активности протеасом и α -РНП от условий реакции эндонуклеолиза. Цитология. 44 (2) : 181—187. (Mittenberg A. G., Kulichkova V. A., Medvedeva N. D., Pennijainen V. A., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2002b. Characteristics of endoribonuclease activity of proteasomes from K562 cells. I. Dependence of RNase activity of proteasome and alpha-RNP on conditions of endonucleolysis reaction. Tsitologiya. 44 (2) : 181—187.)

Миттенберг А. Г., Моисеева Т. Н., Подольская Е. П., Кузык В. О., Барлев Н. А. 2014. Масс-спектрометрический анализ субъединиц протеасом, обладающих эндорибонуклеазной активностью. Цитология. 56 (4) : 300—315. (Mittenberg A. G., Moiseeva T. N., Podolskaya E. P., Kuzyk V. O., Evteeva I. N., Barlev N. A. 2014. Mass-spectrometric analysis of proteasomal subunits possessing endoribonuclease activity. Tsitologiya. 56 (4) : 300—315.)

Миттенберг А. Г., Моисеева Т. Н., Пугачева И. В., Куличкова В. А., Цимоха А. С., Гаузе Л. Н., Константинова И. М. 2007. Регуляция специфичности эндорибонуклеазной активности протеасом при действии индукторов дифференцировки и апоптоза на клетки линии К562. Цитология. 49 (2) : 142—148. (Mittenberg A. G., Moiseeva T. N., Pugacheva I. V., Kulichkova V. A., Tsimokha A. S., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2007. Regulation of the specificity of the 26S proteasome endoribonuclease activity in K562 cells under the action of differentiation and apoptosis inducers. Cell Tissue Biol. (Tsitologiya). 1 (2) : 162—168.)

Моисеева Т. Н., Миттенберг А. Г., Федорова О. А., Цимоха А. С., Барлев Н. А. 2010. Влияние убиквитинилирования на пептидазные активности протеасом при генотоксическом стрессе. Докл. РАН. 435 (2) : 267—271. (Moiseeva T. N., Mittenberg A. G., Fedorova O. A., Tsimokha A. S., Barlev N. A. 2010. Proteomic analysis of 20S proteasome's RNA-hydrolysing subunits under apoptosis induction in K562 cells. Dokl. Akad. Nauk. 435 : 307—311.)

Токтарова М. В., Куличкова В. А., Миттенберг А. Г., Кожухарова И. В., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б., Пешехонов А. В., Иенатова Т. Н., Гаузе Л. Н., Константинова И. М. 2004. Дифференциальная регуляция эндорибонуклеазной активности 26S протеасом альфа-РНП частиц при действии индукторов апоптоза на клетки линии К562: участие альфа-РНП-частиц и протеасом в контроле над стабильностью РНК при программированной клеточной гибели. Цитология 46 (3) :

- 283—290. (Toktarova M. V., Kulichkova V. A., Mittenberg A. G., Kozhukharova I. V., Volkova I. V., Ermolaeva Yu. B., Peshekhonov A. V., Ignatova T. N., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2004. Selective effect of inductors of apoptosis on the endoribonuclease activity of 26S proteasomes and alpha-RNP particles in K562 cells: possible involvement of 26S proteasomes and alpha-RNP in the regulation of RNA stability. *Tsitologiya*. 46 (3) : 283—290.)
- Федорова О. А., Моисеева Т. Н., Миттенберг А. Г., Барлев Н. А. 2010. Эндорибонуклеазная активность рекомбинантных альфа-субъединиц протеасом. *Цитология*. 52 (12) : 1012—1015. (Fedorova O. A., Moiseeva T. N., Mittenberg A. G., Barlev N. A. 2011. Recombinant proteasomal alpha-type subunits exhibit endoribonuclease activity. *Cell Tissue Biol. (Tsitologiya)*. 5 (2) : 123—126.)
- Цимоха А. С., Ватажок Ю. Я., Ващукова Е. С., Куличкова В. А., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б., Миттенберг А. Г., Евтеева И. Н., Иванов В. А., Гаузе Л. Н., Константинова И. М. 2005. Статус фосфорилирования протеасом и альфа-РНП-частиц из клеток печени крысы. *Цитология*. 47(5) : 436—441. (Tsimokha A. S., Vatazhok J. J., Vashukova E. S., Kulichkova V. A., Volkova I. V., Ermolaeva J. B., Mittenberg A. G., Evteeva I. N., Ivanov V. A., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2005. The phosphorylation state of proteasomes and alpha-RNP complexes from rat liver cells. *Tsitologiya*. 47 (5) : 436—441.)
- Abdelmohsen K., Srikantan S., Yang X., Lal A., Kim H. H., Kawano Y., Galban S., Becker K. G., Kamara D., de Cabo R., Gorospe M. 2009. Ubiquitin-mediated proteolysis of HuR by heat shock. *EMBO J*. 28 : 1271—1282.
- Aharon T., Schneider R. J. 1993. Selective destabilization of short-lived mRNAs with the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor AU-rich 3' noncoding region is mediated by a cotranslational mechanism. *Mol. Cell Biol*. 13 : 1971—1980.
- Auld K. L., Brown C. R., Casolari J. M., Komili S., Silver P. A. 2006. Genomic association of the proteasome demonstrates overlapping gene regulatory activity with transcription factor substrates. *Mol. Cell*. 21 : 861—871.
- Baumeister W., Walz J., Zuhl F., Seemuller E. 1998. The proteasome: paradigm of a self-compartmentalizing protease. *Cell*. 92 : 367—380.
- Benaroudj N., Tarsca E., Cascio P., Goldberg A. L. 2001. The unfolding of substrates and ubiquitin-independent protein degradation by proteasomes. *Biochimie*. 83 : 311—318.
- Bey F., Silva Pereira I., Coux O., Viegas-Péquignot E., Recillas Targa F., Nothwang H. G., Dutrillaux B., Scherrer K. 1993. The prosomal RNA-binding protein p27K is a member of the alpha-type human prosomal gene family. *Mol. Gen. Genet*. 237 : 193—205.
- Carballo E., Lai W. S., Blackshear P. J. 2000. Evidence that tristetraprolin is a physiological regulator of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor messenger RNA deadenylation and stability. *Blood*. 95 : 1891—1899.
- Cheung V., Chua G., Batada N. N., Landry C. R., Michnick S. W., Hughes T. R., Winston F. 2008. Chromatin- and transcription-related factors repress transcription from within coding regions throughout the *Saccharomyces cerevisiae* genome. *PLoS Biol*. 6 : e277.
- Coffino P. 2001. Antizyme, a mediator of ubiquitin-independent proteasomal degradation. *Biochimie*. 83 : 319—323.
- Collins G. A., Gomez T. A., Deshaies R. J., Tansey W. P. 2010. Combined chemical and genetic approach to inhibit proteolysis by the proteasome. *Yeast*. 27 : 965—974.
- Daulny A., Tansey W. P. 2009. Damage control: DNA repair, transcription, and the ubiquitin-proteasome system. *DNA Repair*. 8 : 444—448.
- Dick T. P., Nussbaum A. K., Deeg M., Heinemeyer W., Groll M., Schirle M., Keilholz W., Stevanovic S., Wolf D. H., Huber R., Rammensee H. G., Schild H. 1998. Contribution of proteasomal beta-subunits to the cleavage of peptide substrates analyzed with yeast mutants. *J. Biol. Chem*. 273 : 25 637—25 646.
- Ezhkova E., Tansey W. P. 2004. Proteasomal ATPases link ubiquitylation of histone H2B to methylation of histone H3. *Mol. Cell*. 13 : 435—442.
- Fan X. C., Steitz J. A. 1998. Overexpression of HuR, a nuclear-cytoplasmic shuttling protein, increases the in vivo stability of ARE-containing mRNAs. *EMBO J*. 17 : 3448—3460.
- Fatyal K., Grummt I. 2008. Proteasomal ATPases are associated with rDNA: the ubiquitin proteasome system plays a direct role in RNA polymerase I transcription. *Biochim. biophys. acta*. 1779 : 850—859.
- Fedorova O. A., Moiseeva T. N., Nikiforov A. A., Tsimokha A. S., Livinskaya V. A., Hodson M., Bottrill A., Evteeva, I. N., Ermolayeva J. B., Kuznetsova I. M., Turoverov K. K., Eperon I., Barlev N. A. 2011. Proteomic analysis of the 20S proteasome (PSMA3)-interacting proteins reveals a functional link between the proteasome and mRNA metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 416 : 258—265.
- Ferdous A., Gonzalez F., Sun L., Kodadek T., Johnston S. A. 2001. The 19S regulatory particle of the proteasome is required for efficient transcription elongation by RNA polymerase II. *Mol. Cell*. 7 : 981—991.
- Ferdous A., Kodadek T., Johnston S. A. 2002. A nonproteolytic function of the 19S regulatory subunit of the 26S proteasome is required for efficient activated transcription by human RNA polymerase II. *Biochemistry*. 41 : 12 798—12 805.
- Ferdous A., Sikder D., Gillette T., Nalley K., Kodadek T., Johnston S. A. 2007. The role of the proteasomal ATPases and activator monoubiquitylation in regulating Gal4 binding to promoters. *Genes Develop*. 21 : 112—123.
- Fishbain S., Prakash S., Herrig A., Elsassser S., Matouschek A. 2011. Rad23 escapes degradation because it lacks a proteasome initiation region. *Nat. Commun*. 2 : 192.
- Gautier-Bert K., Murol B., Jarrousse A. S., Ballut L., Badaoui S., Petit F., Schmid H. P. 2003. Substrate affinity and substrate specificity of proteasomes with RNase activity. *Mol. Biol. Rep*. 30 : 1—7.
- Geng F., Tansey W. 2012. Similar temporal and spatial recruitment of native 19S and 20S proteasome subunits to transcriptionally active chromatin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 109 : 6060—6065.
- Gherzi R., Lee K. Y., Briata P., Wegmuller D., Moroni C., Karin M., Chen C. Y., 2004. A KH domain RNA binding protein, KSRP, promotes ARE-directed mRNA turnover by recruiting the degradation machinery. *Mol. Cell*. 14 : 571—583.
- Gillette T. G., Gonzalez F., Delahodde A., Johnston S. A., Kodadek T. 2004. Physical and functional association of RNA polymerase II and the proteasome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101 : 5904—5909.
- Glickman M. H., Ciechanover A. 2002. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev*. 82 : 373—428.
- Gonzalez F., Delahodde A., Kodadek T., Johnston S. A. 2002. Recruitment of a 19S proteasome subcomplex to an activated promoter. *Science*. 296 : 548—550.
- Harris J. R. 1968. Release of a macromolecular protein component from human erythrocyte ghosts. *Biochem. biophys. Acta*. 150 : 534—537.
- Jarrousse A.-S., Petit F., Kreutzer-Schmid C., Geadigk R. 1999. Possible involvement of proteasomes (prosome) in AUUUA-mediated mRNA decay. *J. Biol. Chem*. 274 : 5925—5930.
- Jørgensen L., Hendil K. B. 1999. Proteasome subunit zeta, a putative ribonuclease, is also found as a free monomer. *Mol. Biol. Rep*. 26 : 119—123.
- Kandasamy K., Kraft A. S. 2008. Proteasome inhibitor PS-341 (VELCADE) induces stabilization of the TRAIL receptor DR5 mRNA through the 3'-untranslated region. *Mol. Cancer Ther*. 7 : 1091—1100.
- Kisselev A. F., Akopian T. N., Castillo V., Goldberg A. L. 1999. Proteasome active sites allosterically regulate each other, suggesting a cyclical bite-chew mechanism for protein breakdown. *Mol. Cell*. 4 : 395—402.
- Kodadek T. 2010. No splicing, no dicing: non-proteolytic roles of the ubiquitin-proteasome system in transcription. *J. Biol. Chem*. 285 : 2221—2226.

- Konstantinova I. M., Tsimokha A. S., Mittenberg A. G. 2008. Role of proteasomes in cellular regulation. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 267 : 99—166.
- Koues O. I., Dudley R. K., Mehta N. T., Greer S. F. 2009. The 19S proteasome positively regulates histone methylation at cytokine inducible genes. *Biochim. biophys. acta.* 1789 : 691—701.
- Koues O. I., Dudley R. K., Truax A. D., Gerhardt D., Bhat K. P., McNeal S., Greer S. F. 2008. Regulation of acetylation at the major histocompatibility complex class II proximal promoter by the 19S proteasomal ATPase Sug1. *Mol. Cell. Biol.* 28 : 5837—5850.
- Koues O. I., Mehta N. T., Truax A. D., Dudley R. K., Brooks J. K., Greer S. F. 2010. Roles for common MLL/COMPASS subunits and the 19S proteasome in regulating CIITA pIV and MHC class II gene expression and promoter methylation. *Epigenetics Chromatin.* 3(1) : 5. doi: 10.1186/1756-8935-3-5.
- Kulichkova V. A., Fedorova O. A., Tsimokha A. S., Moiseeva T. N., Bottril A., Lezina L., Gauze L. N., Konstantinova I. M., Mittenberg A. G., Barlev N. A. 2010. 26S proteasome exhibits endoribonuclease activity controlled by extra-cellular stimuli. *Cell Cycle.* 9 : 840—849.
- Lachman H. M. 1989. c-myc protooncogene expression in mouse erythroleukemia cells. *Environ. Health Perspect.* 80 : 161—172.
- Larota G., Schneider R. J. 2002. Alternate exon insertion controls selective ubiquitination and degradation of different AUF1 protein isoforms. *Nucl. Acids Res.* 30 : 3052—3058.
- Lee D., Ezhkova E., Li B., Pattenden S. G., Tansley W. P., Workman J. L. 2005. The proteasome regulatory particle alters the SAGA coactivator to enhance its interactions with transcriptional activators. *Cell.* 123 : 423—436.
- Loflin P., Chen C. Y., Shyu A. B. 1999. Unraveling a cytoplasmic role for hnRNP D in the *in vivo* mRNA destabilization directed by the AU-rich element. *Genes Develop.* 13 : 1884—1897.
- Lu J. Y., Schneider R. J. 2004. Tissue distribution of AU-rich mRNA-binding proteins involved in regulation of mRNA decay. *J. Biol. Chem.* 279 : 12 974—12 979.
- Ma W. J., Cheng S., Campbell C., Wright A., Furneaux H. 1996. Cloning and characterization of HuR, a ubiquitously expressed Elav-like protein. *J. Biol. Chem.* 271 : 8144—8151.
- Malik S., Shukla A., Sen P., Bhaumik S. R. 2009. The 19S proteasome subcomplex establishes a specific protein interaction network at the promoter for stimulated transcriptional initiation *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 284 : 35 714—35 724.
- Marouco D., Garabadgiu A. V., Melino G., Barlev N. A. 2013. Lysine-specific modifications of p53: a matter of life and death? *Oncotarget.* 4 : 1556—1571.
- Ming X. F., Stoecklin G., Lu M., Looser R., Moroni C. 2001. Parallel and independent regulation of interleukin-3 mRNA turnover by phosphatidylinositol 3-kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *Mol. Cell. Biol.* 21 : 5778—5789.
- Mittenberg A. G., Moiseeva T. N., Barlev N. A. 2008. The role of proteasomes in transcription and their regulation by post-translational modifications. *Frontiers in Biosci.* 13 : 7184—7192.
- Moiseeva T. N., Bottrill A., Melino G., Barlev N. A. 2013. DNA damage-induced ubiquitylation of proteasome controls its proteolytic activity. *Oncotarget.* 4 : 1338—1348.
- Morgunkova A., Barlev N. A. 2006. Lysine methylation goes global. *Cell Cycle.* 5 : 1308—1312.
- Morris M. C., Kaiser P., Rudyak S., Baskerville C., Watson M. H., Reed S. I. 2003. Cks1-dependent proteasome recruitment and activation of CDC20 transcription in budding yeast. *Nature.* 424 : 1009—1013.
- Navon A., Goldberg A. L. 2001. Proteins are unfolded on the surface of the ATPase ring before transport into the proteasome. *Mol. Cell.* 8 : 1339—1349.
- Nishiyama A., Tachibana K., Igarashi Y., Yasuda H., Tanahashi N., Tanaka K., Ohsumi K., Kishimoto T. 2000. A nonproteolytic function of the proteasome is required for the dissociation of Cdc2 and cyclin B at the end of M phase. *Genes Dev.* 14 : 2344—2357.
- Perissi V., Aggarwal A., Glass C. K., Rose D. W., Rosenfeld M. G. 2004. A corepressor/coactivator exchange complex required for transcriptional activation by nuclear receptors and other regulated transcription factors. *Cell.* 116 : 511—526.
- Petit F., Jarrousse A.-S., Boissonnet G., Dadet M.-H., Buri J. 1997a. Proteasome (prosome) associated endonuclease activity. *Mol. Biol. Rep.* 24 : 113—117.
- Petit F., Jarrousse A.-S., Dahlmann B., Sobek A., Hendil K. B., Buri J., Briand Y., Schmid H.-P. 1997b. Involvement of proteasomal subunits zeta and iota in RNA degradation. *Biochem. J.* 326 : 93—98.
- Pouch M. N., Petit F., Buri J., Briand Y., Schmid H.-P. 1995. Identification and initial characterization of a specific proteasome (prosome) associated RNase activity. *J. Biol. Chem.* 270 : 22 023—22 028.
- Raineri I., Wegmueller D., Gross B., Certa U., Moroni C. 2004. Roles of AUF1 isoforms, HuR and BRF1 in ARE-dependent mRNA turnover studied by RNA interference. *Nucl. Acids Res.* 32 : 1279—1288.
- Rasti M., Grand R. J., Yousef A. F., Shuen M., Mymryk J. S., Gallimore P. H., Turnell A. S. 2006. Roles for APIS and the 20S proteasome in adenovirus E1A-dependent transcription. *EMBO J.* 25 : 2710—2722.
- Russell S. J., Johnston S. A. 2001. Evidence that proteolysis of Gal4 cannot explain the transcriptional effects of proteasome ATPase mutations. *J. Biol. Chem.* 276 : 9825—9831.
- Russell S. J., Sathyanarayana U. G., Johnston S. A. 1996. Isolation and characterization of SUG2. A novel ATPase family component of the yeast 26S proteasome. *J. Biol. Chem.* 271 : 32 810—32 817.
- Sachs A. B. 1993. Messenger RNA degradation in eukaryotes. *Cell.* 74 : 413—421.
- Savant-Bhonsale S., Cleveland D. W. 1992. Evidence for instability of mRNAs containing AUUUA motifs mediated through translation-dependent assembly of a 20S degradation complex. *Genes Develop.* 6 : 1927—1939.
- Schmidlin M., Lu M., Leuenberger S. A., Stoecklin G., Mallaun M., Gross B., Gherzi R., Hess D., Hemmings B. A., Moroni C. 2004. The ARE-dependent mRNA-destabilizing activity of BRF1 is regulated by protein kinase B. *EMBO J.* 23 : 4760—4769.
- Sikder D., Johnston S. A., Kodadek T. 2006. Widespread, but non-identical, association of proteasomal 19 and 20 S proteins with yeast chromatin. *J. Biol. Chem.* 281 : 27 346—27 355.
- Sorokin A. V., Ovchinnikov L. P. 2010. Novel findings on endoribonuclease activity of proteasomes. *Cell Cycle.* 9 : 1028.
- Stoecklin G., Colombi M., Raineri I., Leuenberger S., Mallaun M., Schmidlin M., Gross B., Lu M., Kitamura T., Moroni C. 2002. Functional cloning of BRF1, a regulator of ARE-dependent mRNA turnover. *EMBO J.* 21 : 4709—4718.
- Sun L., Johnston S. A., Kodadek T. 2002. Physical association of the APIS complex and general transcription factors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296 : 991—999.
- Swaffield J. C., Melcher K., Johnston S. A. 1995. A highly conserved ATPase protein as a mediator between acidic activation domains and the TATA-binding protein. *Nature.* 374 : 88—91.
- Szutorisz H., Georgiou A., Tora L., Dillon N. 2006. The proteasome restricts permissive transcription at tissue-specific gene loci in embryonic stem cells. *Cell.* 127 : 1375—1388.
- Taylor G. A., Thompson M. J., Lai W. S., Blackshear P. J. 1996. Mitogens stimulate the rapid nuclear to cytosolic translocation of tristetraprolin, a potential zinc-finger transcription factor. *Mol. Endocrinol.* 10 : 140—146.
- Taylor G. A., Blackshear P. J. 1995. Zinc inhibits turnover of labile mRNAs in intact cells. *J. Cell. Physiol.* 162 : 378—387.
- Touitou R., Richardson J., Bose S., Nakanishi M., Rivett J., Allday M. J. 2001. A degradation signal located in the C-terminus of p21WAF1/CIP1 is a binding site for the C8 alpha-subunit of the 20S proteasome. *EMBO J.* 20 : 2367—2375.
- Tran K., Mahr J. A., Spector D. H. 2010. Proteasome subunits relocate during human cytomegalovirus infection, and proteasome activity is necessary for efficient viral gene transcription. *J. Virol.* 84 : 3079—3093.
- Truax A. D., Koues O. I., Mentel M. K., Greer S. F. 2010. The 19S ATPase S6a (S6/TBP1) regulates the transcription initiation of class II transactivator. *J. Mol. Biol.* 395 : 254—269.

Tsimokha A. S., Mittenberg A. G., Kulichkova V. A., Kozhukharova I. V., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2007. Changes in composition and activities of 26S proteasomes under the action of doxorubicin — apoptosis inducer of erythroleukemic K562 cells. *Cell. Biol. Int.* 31 : 338—348.

Tsvetkov P., Reuven N., Shaul Y. 2010. Ubiquitin-independent p53 proteasomal degradation. *Cell Death Differ.* 17 : 103—108.

Verma R., Chen S., Feldman R., Schieltz D., Yates J., Dohmen J., Deshaies R. J. 2000. Proteasomal proteomics: identification of nucleotide-sensitive proteasome-interacting proteins by mass spectrometric analysis of affinity-purified proteasomes. *Mol. Biol. Cell.* 11 : 3425—3439.

Verma R., Oania R., Fang R., Smith G. T., Deshaies R. J. 2011. Cdc48/p97 mediates UV-dependent turnover of RNA Pol II. *Mol. Cell.* 41 : 82—92.

Voges D., Zwickl P., Baumeister W. 1999. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annu. Rev. Biochem.* 68 : 1015—1068.

Walz J., Erdmann A., Kania M., Typke D., Koster A. J., Baumeister W. 1998. 26S proteasome structure revealed by three-dimensional electron microscopy. *J. Struct. Biol.* 121 : 19—29.

Wang Z., Kiledjian M. 2000. Identification of an erythroid-enriched endoribonuclease activity involved in specific mRNA cleavage. *EMBO J.* 19 : 295—305.

Xu Q., Singer R. A., Johnston G. C. 1995. Sug1 modulates yeast transcription activation by Cdc68. *Mol. Cell. Biol.* 15 : 6025—6035.

Поступила 7 II 2014

NON-CANONICAL ACTIVITIES OF THE PROTEASOMES

A. G. Mittenberg

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;
e-mail: a.mittenberg@gmail.com

26S proteasome is a highly specialized evolutionarily conserved ribonucleoprotein machine to instantly restore order in the intracellular proteome. It is composed of the 20S core particle and attached there to regulatory complexes. In addition to a comprehensively studied ubiquitin-proteasome pathway of protein degradation, proteasomes are involved (directly or indirectly) in most stages of the regulation of gene expression (at the levels of transcription, splicing, mRNA stability control, etc.). In the present review an attempt to systematize the recent literature on proteasomes' role in the regulation of transcription at all stages, including the modulation of the activity and stability of transcription factors, chromatin remodulation, elongation and termination of RNA synthesis is made. In addition, very interesting but controversial feature of the proteasome: their ability to bind and hydrolyze certain types of RNA, is observed. Obviously, universal role of proteasomes in gene regulation is determined by complicated composition of these protein complexes possessing a unique set of different enzymatic activities: ATPase/helicase, proteolytic and ribonuclease, which, depending on the case, can be used together or separately.

Key words: proteasome, transcription, mRNA stability, regulation of gene expression, posttranslational modifications.